

PRODUCTION OF CEREAL PROTEIN

Patent number: JP11308969
Publication date: 1999-11-09
Inventor: ENATSU MAKOTO; KURAMORI KOICHI; TSUMURA KAZUNOBU; KUGIMIYA WATARU
Applicant: FUJI OIL CO LTD
Classification:
- **international:** A23J3/16; A23J3/14
- **european:**
Application number: JP19980119479 19980428
Priority number(s):

Abstract of JP11308969

PROBLEM TO BE SOLVED: To produce cereal protein, especially soybean protein, capable of exhibiting new functions such as thermal reversibility by treating a cereal protein with a specific solution.

SOLUTION: A cereal protein is treated with an acidic polar organic solvent. Soybean protein can be used as the cereal protein and ethanol, acetonitrile, 1-propanol, 2-propanol, methanol, acetone, etc., can be used as the polar organic solvent. Among the above examples, methanol is preferable in the case of using the protein as a food from the viewpoint of the influence on the taste and flavor and the food hygienic and safety, etc. The pH of the polar organic solvent is preferably ≤ 4.5 .

Data supplied from the *esp@cenet* database - Patent Abstracts of Japan

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平11-308969

(43) 公開日 平成11年(1999)11月9日

(51) Int.Cl.⁶

A 2 3 J 3/16
3/14

識別記号

5 0 2

F I

A 2 3 J 3/16
3/14

5 0 2

審査請求 未請求 請求項の数 5 O L (全 6 頁)

(21) 出願番号 特願平10-119479

(22) 出願日 平成10年(1998) 4月28日

(71) 出願人 000236768

不二製油株式会社

大阪府大阪市中央区西心斎橋2丁目1番5号

(72) 発明者 江夏 誠

茨城県筑波郡谷和原村網の台4丁目3番地
不二製油株式会社つくば研究開発センタ
一内

(72) 発明者 倉盛 宏一

茨城県筑波郡谷和原村網の台4丁目3番地
不二製油株式会社つくば研究開発センタ
一内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 穀物タンパク質の製造方法

(57) 【要約】

【課題】熱可逆性などの新規な機能を発現させる穀物タンパク質の製造方法の提供を課題とする。

【解決手段】穀物タンパク質を酸性の極性有機溶媒溶液で処理（溶解）することで上記の課題を解決できた。更に詳しくは、穀物タンパク質、とりわけ大豆タンパク質を好ましくは極性有機溶媒濃度30%以上、温度20から150°C、pH4.5以下の条件で処理することにより、新規な機能例えば熱可逆性などを発現する、αヘリックス含量が多い構造に変換された大豆タンパク質の製造方法を発明した。

【特許請求の範囲】

【請求項1】穀物タンパク質を酸性の極性有機溶媒溶液で処理することを特徴とする穀物タンパク質の製造方法。

【請求項2】穀物タンパク質が豆類タンパク質である請求項1に記載の製造方法。

【請求項3】穀物タンパク質が大豆タンパク質である請求項1に記載の製造方法。

【請求項4】極性有機溶媒がエタノール、アセトニトリル、1-プロパノール、2-プロパノール、メタノール又はアセトンなどである請求項1に記載の製造方法。

【請求項5】極性有機溶媒溶液のpHが4.5以下である請求項1に記載の製造方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、新規な機能を有する穀物タンパク質の製造法に関するものである。

【0002】

【従来の技術】現在、多くの穀物タンパク質が食品素材として使用されている。特にその代表例である大豆タンパク質は、そのゲル化性、乳化性、保水性などの機能を利用して、食品素材として有用不可欠なものとして幅広く使用されている。

【0003】大豆タンパク質の代表例の一つである分離大豆タンパク質の製造方法は、公知の様に一般的には脱脂大豆から中性〜弱アルカリ液でタンパク質画分を抽出後、不溶成分を遠心分離で除去する。次にその抽出液（いわゆる豆乳と言う）に酸（塩酸、磷酸、硫酸など）を加えて、pHを4.5付近にしてタンパク質を不溶化し沈澱させる。遠心分離によって、沈澱画分（カード）を回収し、再度カードを分散しアルカリ剤（カセイソーダ、カセイカリなど）を加えてpH7.0付近にしてタンパク質を可溶化し中和する。その中和液を加熱又はせずに、噴霧乾燥し粉末状大豆タンパク質（分離大豆タンパク質）を得る。この噴霧乾燥の前に、殺菌工程として加熱処理を行う場合は、その加熱条件によって大豆タンパク質の機能が変化して各製品の特徴を作り出すことも兼ねている。

【0004】大豆タンパク質の有用な機能（特にゲル化能）は加熱変性により発現し、主に大豆タンパク質の主成分である7Sグロブリン、11Sグロブリンを用いてこれまで詳細に研究されてきている。そのメカニズムは、特に11Sグロブリンであるが、中性域での加熱により、タンパク質は球状を保ったまま数珠状に繋がった繊維状会合体を先ず形成することが報告されている（日本農芸化学会誌、vol.62、No.5、882）。この繊維状会合体が元となり、大豆タンパク質の様々な機能を発現すると考えられる。例えば、更に加熱、塩類の添加を行うと、この繊維状会合体が会合しゲル化を示す。このゲルに於ては、多糖類例えば寒天、カラギーナンの

ような加熱融解、冷却凝固と言った熱可逆性ではない。このゲル化は加熱によって起こるため、ゲル化過程が不可逆であることが特徴である。

【0005】他にこの加熱変性でタンパク質の機能向上を行っているものとして、牛乳の乳清タンパク質の加熱変性法が挙げられる。これは55°C以上の温度で加熱することにより、乳清タンパク質の透明性、ゲル物性を向上させる方法である（特開平4-228036）。

【0006】ところが一方、このような加熱変性による機能発現とは異なるメカニズムのタンパク質ゲルとして、ゼラチンの熱可逆性ゲルが挙げられる。このゼラチンゲルは温度が高い条件ではゼラチンタンパク質の α ヘリックス構造が壊れゾル状態になる。これに対し、低温では α ヘリックスが再形成され、ゲル化する熱可逆性を示す（Foods Food Ingredients J. Jpn. No. 170, 82, 1996）。この様にゼラチンタンパク質が持つ α ヘリックス構造がゼラチンゲルの熱可逆性発現に重要であると考えられる。

【0007】一方、穀物タンパク質の代表例である大豆タンパク質の主な構成成分の7Sグロブリン、11Sグロブリンの二次構造はゼラチンとは異なり、 β シート含量が多く α ヘリックス構造は少ない。この様な点から、大豆タンパク質の構造を β シート構造から α ヘリックス構造に変換すれば、例えばゼラチンの熱可逆性ゲルの様な新規な機能の発現が期待される。ただし、この構造変換から期待される機能はこの熱可逆性ゲルに限定されるものではない。

【0008】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、熱可逆性などの新規な機能を発現させる穀物タンパク質、とりわけ大豆タンパク質の製造方法の提供を課題とする。

【0009】

【課題を解決するための手段】本発明は、穀物タンパク質を酸性の極性有機溶媒溶液で処理することを特徴とする穀物タンパク質の製造方法である。

【0010】

【発明の実施の形態】本発明で用いる用語を次の様に定義する。穀物タンパク質とは、穀物中に含まれているタンパク質の総称を言う。豆類タンパク質とは、豆類中に含まれているタンパク質の総称を言う。大豆タンパク質とは、大豆種子中に存在するタンパク質成分の総称を言う。大きな誘電率を持つ溶媒である。穀物タンパク質（又は、大豆タンパク質。以下、（ ）内同士で対応する、同様の意味。）を酸性の有機溶媒溶液で処理することは、pH4.5以下に調整した含水極性有機溶媒に穀物タンパク質（又は、大豆タンパク質）を溶解させることを言う。穀物タンパク質（又は、大豆タンパク質）の新規な機能とは、これまでの穀物タンパク質（又は、大豆タンパク質）の機能とは異なる新規な機能、例えば熱可逆性等を指す。ただし、この処理によってこれまでの機

能が改善される場合はこの範疇に含める。7S（又は、11S）グロブリンとは、大豆タンパク質の中で超遠心法による沈降定数測定に於て7S（又は、11S）の沈降定数を示すタンパク質の総称を言う。

【0011】 α ヘリックスとは、タンパク質の二次構造の一つで、ポリペプチド鎖が螺旋状の構造をとっているものを言う。 β シートとは、タンパク質の二次構造の一つで、延びたポリペプチド鎖が水素結合でつながってシート状の構造を作っているものを言う。熱可逆性とは、冷却凝固、加熱融解を示すことを言う。 $\beta 3$ とは、7Sグロブリンを構成している3種類のサブユニットの一つである β サブユニットのみで構成されている7Sグロブリンの一種。（7Sグロブリンは3サブユニットから構成されている。）

【0012】CDスペクトルとは、左円偏光に対するモル吸光度係数 ϵ_R と右円偏光に対するモル吸光度係数 ϵ_L との間に差 $\Delta\epsilon$ が生じることを円二色性（CD）と言い、この $\Delta\epsilon$ を波長に対してプロットしたものを言う。平均残基分子量とは、タンパク質の分子量を残基数で割ったものを言う。分子楕円率とは、円二色性の大きさと符号を表すのに用いる量。この値を波長に対してプロットしたスペクトルはタンパク質の二次構造によって異なってくる。特に222nmでの値の大きさは、 α ヘリックス含量を反映しており、この含量の指標となる。貯蔵弾性率とは、正弦的に変化する応力を加えた場合、弾性に相当する部分のことを言う。この値が大きくなるとゲル化が進んでいることを示し、ゲル化の指標として使用している。

【0013】本発明は穀物タンパク質を酸性の含水極性有機溶媒溶液で処理することを特徴とする穀物タンパク質の製造方法である。本件に於ては豆類タンパク質を使用しているがこのタンパク質に限定されるものではない。この方法は、他の穀物タンパク質、例えば、小麦タンパク質、トウモロコシタンパク質、米タンパク質等にも応用することが出来る。

【0014】本発明は穀物タンパク質である豆類タンパク質を、酸性の含水極性有機溶媒溶液で処理することを特徴とする、大豆タンパク質の製造方法である。本件に於ては大豆タンパク質及びインゲン豆タンパク質を使用しているがこのタンパク質に限定されるものではない。この方法は他の豆類タンパク質、例えば、エンドウ豆、ソラ豆、小豆等のタンパク質に応用することが出来る。

【0015】本発明は穀物タンパク質である大豆タンパク質を、酸性の含水極性有機溶媒溶液で処理することを特徴とする、大豆タンパク質の製造方法である。本製造方法に於ては、丸大豆、脱脂大豆、分離大豆タンパク質を使用することが出来る。好ましくは脱脂大豆、或いは分離大豆タンパク質を使用するのがよい。丸大豆、脱脂大豆を使用する場合は、含水極性有機溶媒溶液中に不溶な成分を生じる。この部分はいわゆるオカラと呼ばれ

ているものである。しかし、この成分は遠心分離或いは濾過などで除去することなく混在させて置いてかまわない。

【0016】本発明で使用する極性有機溶媒は水に混和する溶媒であればかまわない。例として、エタノール、アセトニトリル、1-プロパノール、2-プロパノール、メタノール、アセトンなどを使用することが出来るが、食品に使用する場合は風味への影響や食品衛生・安全などの点からエタノールが好ましい。しかし、非食品に使用する場合はこの限りではない。使用する極性有機溶媒の濃度は、使用する溶媒の極性に依存する。極性の高いアセトニトリルを使用した場合は、目的とする構造を得るためには40%以上の濃度を必要とするが、好ましくはエタノール以上の疎水性を持ち、30%以上が好ましい。極性有機溶媒で処理を行う温度は、各極性有機溶媒の濃度によって異なってくる。タンパク質を溶解させる温度で、タンパク質を分解しない温度であれば特に限定しない。好ましくは20°Cから150°Cまでがよい。

【0017】本発明に於ては、酸性の極性有機溶媒を使用する。この時、pHの調整に使用する酸は特に限定はない。溶媒を酸性にする酸で、溶媒に溶解する酸であれば、使用することが出来る。出来るならば塩酸、硫酸、或いは有機酸が食品に使用する場合は好ましい。極性有機溶媒のpHは、酸性側特にpH4.5以下であればかまわない。好ましくはpH4.5からpH1.0がよい。更に好ましくはpH3.5からpH2.0がよい。

【0018】本発明の操作は次の通りである。即ち、穀物タンパク質を30%以上の含水極性有機溶媒で、20°Cから150°Cの温度、pH4.5以下の条件で処理を行う。これにより、本発明の変性穀物タンパク質を得ることが出来る。

【0019】以下に、実施例及び比較例を揚げこの発明の効果をより一層明確にするがこれらは例示であって、この発明の技術思想がこれらの例示によって限定されるものではない。なお、以下に例示の部、%は特に記載がない場合は重量基準を意味する。

【0020】実施例1

(1) $\beta 3$ の精製方法

脱脂大豆500gに10重量倍の水を添加し、pHを7.0に調整して抽出する。不溶物を遠心分離で除き、pHを6.4に調整し、4°Cで一晩静置した。生成した沈澱を遠心分離で回収し、これを水に再度分散する。pHを7.0に合わせ、50%飽和になる様に硫酸を添加し、遠心分離により不溶物を除去した。続いて、硫酸濃度を60%にし遠心分離で11S画分を除き上清液を回収した。この上清液を更に硫酸濃度90%にして、 $\beta 3$ タンパク質を遠心分離で回収した。これを塩酸でpHを3.0に調節した蒸留水に透析することによって脱塩

し、分子楕円率の測定を行った。

(2) 分子楕円率の測定

このβ3をpHを2.0で各濃度の有機溶媒に0.02%になる様に溶解させ、各々のCDスペクトルを「円二色性分散計J-720型」(日本分光株式会社製。以下も同様。)で0.1cmの光路差のセルを使用して測定した。平均残基分子量を115.3として分子楕円率の計算を行った。その結果、Fig-1に示す様に極性有機溶媒が30%以上になる場合は大豆タンパク質の222nmの分子楕円率が-8000以下になった。

【0021】実施例2

(1) サンプル調製

脱脂大豆200gに10重量倍の水を添加し、pHを7.0に調整し、30分間タンパク質の抽出を行った。遠心分離で不溶物を除いた後、pHを4.5にしてタンパク質を沈殿させ、遠心分離により回収した。これを再度水に分散しpHを7.0にし、フリーズドライにより乾燥した。

(2) CDスペクトルの測定

上記の方法で作成した大豆タンパク質をpHを3.0、エタノール50%、タンパク質濃度0.02%になる様に調製し、これを使用し、CDスペクトルを「円二色性分散計J-720型」で0.1cmの光路差のセルを使用して測定した。平均残基分子量は116として分子楕円率の計算を行った。その結果、Fig-2に示すようにエタノールで処理したものはαヘリックス構造に特有なスペクトルを示し、222nmの分子楕円率、-10300の値を示した。

(3) 熱可逆性の測定

実施例2の(1)のサンプル調製で得られた大豆タンパク質を使用して、4%のタンパク質濃度、pHを3.0、エタノール濃度50%の溶液を作成した。この溶液を使用し、「CSL型ストレス制御式レオメータCSL-500」(CARRI-MET社製。以下も同様。)を使用して、80°Cから10°Cまで20分間で降温し、続けて10°Cから80°Cまで同様に昇温させ、貯蔵弾性率を測定した。その結果、Fig-3に示すように、降温とともに貯蔵弾性率は上昇し、昇温とともに減少するといった明確な熱可逆性を示した。

【0022】実施例3

(1) サンプル調製

脱脂したインゲン豆100gに8重量倍の0.5MのNaClを含むpH7.5、0.05Mトリス塩酸緩衝液を添加してタンパク質画分を抽出した。遠心分離により、不溶成分を除いた後に、上清を40%飽和になるように硫酸を添加した。沈殿を遠心分離により回収し、25mMのトリス塩酸緩衝液pH7.5に再分散させ、次に蒸留水に透析することにより脱塩した。この脱塩溶液を凍結乾燥し、タンパク質画分とした。

(2) CDスペクトルの測定

上記の方法で作成したタンパク質をpH3.0、エタノール50%、タンパク質濃度0.02%になる様に調製し、これを使用し、CDスペクトルを「円二色性分散計J-720型」で0.1cmの光路差のセルを使用して測定した。平均残基分子量は116として分子楕円率の計算を行った。その結果、222nmの分子楕円率は-8000以上の値を示した。

(3) 熱可逆性の測定

実施例3の(1)のサンプル調製で得られたタンパク質を使用して、4%のタンパク質濃度、pH3.0、エタノール濃度50%の溶液を作成した。この溶液を80°Cで加熱すると溶液状態になり、4°Cに冷却すると凝固した。この様に加熱融解、冷却凝固性を示す熱可逆性を発現した。

【0023】比較例1

実施例1で述べた方法で作成したβ3をpH3.0、10mMリン酸ナトリウムバッファー中で90°C、10分間加熱後、実施例1で示した方法でCDスペクトルを測定した。その結果、222nmでの分子楕円率は-5000前後となり大幅な増大は見られなかった。

【0024】比較例2

実施例2で述べた方法で作成した大豆タンパク質をpH7.0、10mMリン酸ナトリウムバッファー中で90°C、10分間加熱後、実施例1で示した方法でCDスペクトルを測定した。その結果、比較例1と同様に222nmでの分子楕円率は-5000前後となり大幅な増大は見られなかった。

【0025】比較例3

実施例2で述べた方法で調製した大豆タンパク質を使用し、タンパク質濃度4%、pH7.0で同様の測定を行った。しかし、冷却凝固性、加熱融解性は示さず、ゾル状態のままであった。

【0026】応用例

本発明の応用例として、ブランデーに、20%になるようにグラニュー糖を添加し、これに、大豆タンパク質を濃度7%になるように添加した。更に、クエン酸を使用して、pHを4.0に調製し、これを一旦加熱により溶解させ、型に流し込むことでブランデーを含んだゲル状洋菓子を作成することが出来た。

【0027】

【発明の効果】以上で述べた様に、この発明によれば穀物タンパク質を酸性の極性有機溶媒溶液で処理することにより、新規な機能、例えば熱可逆性を発現させる穀物タンパク質が得られる製造方法を提供出来る様になった。

【0028】

【図面の簡単な説明】

【図1】Fig-1.大豆タンパク質の7Sグロブリンのβ3と各有機溶媒でのαヘリックス(熱可逆性発現の程度を示す)の量を示した図である。更に詳しくは、実施

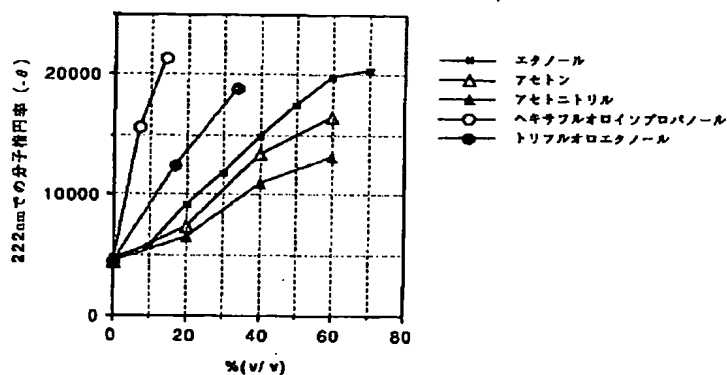
例1に記載した β 3タンパク質を各有機溶媒に0.02%溶解させ、「円二色性分散計J-720型」で測定し分子橢円率の計算を行い α ヘリックス量を反映させたものの。

【図2】Fig-2。大豆タンパク質のエタノール中でのCDスペクトルを示した図である。更に詳しくは、実施例2に記載した大豆タンパク質を酸性(pH3.0)のエタノール50%に0.02%溶解させ、「円二色性分*

* 散計J-720型」で測定し分子橢円率の計算を行い α ヘリックス量を反映させたもの。

【図3】Fig-3。ストレス式レオメーターによる熱可逆性を示したもの。ノール50%に4%溶解させ、降温・昇温(80°C→10°C→80°C)させ、「レオメータCSL-500」でゲル化の指標である貯蔵弾性率を測定し、熱可逆性を確かめたもの。

【図1】

Fig-1 各有機溶媒の θ_{222nm} に与える影響

【図2】

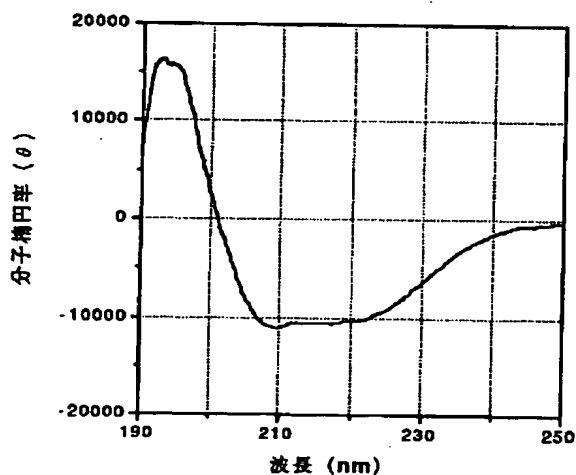


Fig-2 エタノール中での大豆タンパク質のCDスペクトル

【図3】

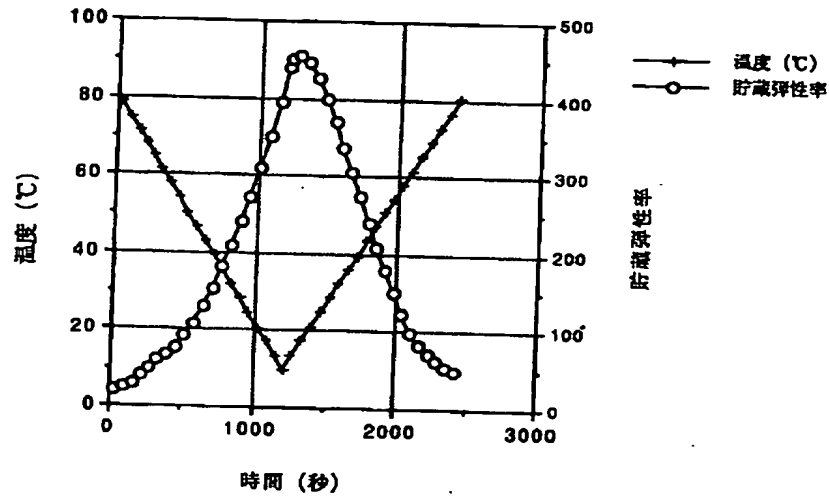


Fig-3 ストレス式レオメーターによる
熱可逆性の測定

フロントページの続き

(72)発明者 津村 和伸

茨城県筑波郡谷和原村絹の台4丁目3番地
不二製油株式会社つくば研究開発センタ
ー内

(72)発明者 釘宮 渉

茨城県筑波郡谷和原村絹の台4丁目3番地
不二製油株式会社つくば研究開発センタ
ー内